

استفاده از خوراک تخمیری در تغذیه آبزیان پرورشی

رضا اکرمی^{۱*} مهرداد نصری^۲ تجن^۲

۱- گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.

۲- گروه شیلات، واحد بین المللی بندرانزلی، دانشگاه آزاد اسلامی، بندر انزلی، ایران

*ایمیل نویسنده مسول: akrami.aqua@gmail.com

چکیده

استفاده از اجزای گیاهی و حیوانی در جیره آبزیان تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله عوامل ضد تغذیه ای، کاهش زیست فراهمی مواد مغذی، اجزای غیرقابل هضم و آلاینده‌های میکروبی است. برای رفع این مشکلات استفاده از فناوری تخمیر (توسط باکتریها و قارچها) در ترکیبات غذای آبزیان اخیراً مورد توجه قرار گرفته است. مشخص شده تخمیر باعث افزایش دسترسی مواد مغذی و زیست فراهمی خوراک، بهبود طعم، افزایش قابلیت هضم و حذف ترکیبات ضد مغذی در اجزای جیره و سهولت هضم شده و عملکرد رشد و سلامت ماهی را بهبود می‌بخشد. بنابراین برای دستیابی به آبرزی پروری پایدار، استفاده از مواد خوراکی تخمیر شده به عنوان خوراک آبرزی ضروری است. در این مطالعه روش های مختلف تخمیر، ویژگی های مواد تشکیل دهنده خوراک تخمیری، عوامل تاثیرگذار در تخمیر و کیفیت مواد غذایی تخمیر شده برای تغذیه آبزیان مورد بررسی قرار می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی: تخمیر، پروتئین گیاهی، فاکتورهای ضدتغذیه ای، اجزای غذایی.

۱- مقدمه

صنعت آبرزی پروری به عنوان مهم‌ترین منبع تامین پروتئین حیوانی در جهان به سرعت در حال رشد است و تا حد زیادی به پودر ماهی متکی است، زیرا پودر ماهی به دلیل ارزش غذایی بالا، طعم و قابلیت هضم مناسب به عنوان منبع اصلی پروتئین و چربی خوراک آبزیان محسوب می‌شود [۱] و به همین دلیل به طور گسترده ای در آبرزی پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال، کمبود منابع، افزایش قیمت ها همراه با نگرانی های زیست محیطی استفاده از پودر ماهی را در آبرزی پروری محدود و منجر به تحقیقات گسترده در راستای جایگزین مناسب برای آن شده است.

چالش اصلی تولید خوراک در آبرزی پروری یافتن منابع جایگزین پایدار، ارزان، حاوی مواد مغذی کامل و با کمترین عوارض است. منابع پروتئینی جایگزین باید دارای پروتئین بالا و ترجیحاً حاوی پروفایل اسید آمینه مطلوب، پلی ساکاریدهای غیرنشاسته ای محلول، سطوح پایین نشاسته، فیبر و عوامل ضد تغذیه ای، طعم مناسب و دارای قابلیت هضم بالای مواد مغذی باشند. بیشتر مواد گیاهی ارزان تر از پودر ماهی هستند، اما تمام این نیازها را برآورده نمی‌کنند [۲]. پروتئین بسیاری از ترکیبات گیاهی حاوی عوامل ضد تغذیه‌ای هستند که برای جیره غذایی نامناسب هستند [۳]. سویا، باقلا، پنبه دانه و آفتابگردان برخی از منابع پروتئین گیاهی هستند که حاوی سطوحی از عوامل ضد تغذیه‌ای شامل گوسیپول، مهارکننده های پروتئاز، مهارکننده های آرژیناز، ساپونین ها، اسید فیتیک و لکتین ها هستند [۴]. منابع پروتئین گیاهی ممکن است زمانی که توسط ماهیان گوشتخوار تغذیه می‌شوند قابلیت هضم کمی داشته و باعث عملکرد رشد ضعیف، افزایش هدررفت مواد مغذی (نیتروژن و فسفر) و بار آلودگی در محیط پرورش می‌شود [۵]. برخی از راهکارها استفاده از روشهایی نظیر تخمیر، حرارت، خیساندن، عملیات مکانیکی، جوانه زنی یا تیمار آنزیمی برای تغییر یا تبدیل مواد خام به مواد سالم، خوش طعم و مغذی می‌باشد.



تخمیر یک راهبرد مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست است که توسط بسیاری از محققین برای استفاده بهینه از مواد گیاهی و جانوری در جیره آبزیان استفاده شده است [۶]. مطالعات قبلی گزارش کردند تخمیر دسترسی به ویتامین ها، زیست فراهمی مواد معدنی و طعم اجزای غذایی را بهبود می دهد. همچنین تخمیر می تواند به افزایش قابلیت هضم مواد مغذی کمک، مواد مغذی و فیتوکمیکال ها را آزاد و در دسترس آنزیم های گوارشی قرار دهد [۷]. علاوه بر این، تخمیر مقدار عوامل ضد تغذیه ای، فیبر خام و محتویات سمی (مانند آفت کش ها، دیواکسین ها، فلزات سنگین، داروها و هیدروکربن های معطر چند حلقه ای) در اجزای خوراک را کاهش می دهد. تخمیر میکروبی باعث بهبود و تقویت میکروبیوتای مفید روده، افزایش آنزیم های گوارشی، افزایش هضم مواد مغذی شده و در نهایت ایمنی و مقاومت آبی در مقابل بیماری را افزایش می دهد. هدف از این مطالعه آن است که تخمیر چگونه بر ترکیب مواد مغذی اجرای غذایی تأثیر می گذارد و استفاده از مواد تخمیری در جیره غذایی ماهی چگونه می تواند بر عملکرد رشد، بهره وری خوراک، میکرواکولوژی دستگاه گوارش و پاسخ های ایمنی تأثیر بگذارد.

۲- اصول تخمیر

مفهوم تخمیر، معرفی میکروارگانیسم های مفید (مخمرها، قارچ های رشته ای و باکتری ها) به یک سوسترا و تولید بی هوازی انرژی از کربوهیدرات ها است [۸]. این میکروارگانیسم ها آنزیم هایی تولید می کنند که به تجزیه کربوهیدرات ها در سوسترا کمک و موادی مانند اسید لاکتیک و اتانول سنتز می کنند [۹]. در طی فرآیند تخمیر، کربوهیدرات، یعنی گلوکز یا هگزوزهای دیگر (مانند ساکارز یا لاکتوز) تا اندازه ای اکسید می شود و از طریق مسیر گلیکولیز به پیرووات تبدیل می شود. سپس پیرووات بسته به نوع تخمیر (اتانول و اسید لاکتیک) به الکل یا اسید تبدیل می شود و سپس در مسیر گلیکولیز مجدداً برای تولید انرژی به شکل ATP استفاده می شود. تخمیر چندسویه و چند مرحله ای نسبت به تخمیر تک سویه و یک مرحله ای کارایی بهتری در حذف مواد ضد تغذیه ای دارد [۱۰].

۳- روش های تخمیر مواد

از نظر میزان رطوبت مورد استفاده، تخمیر به دو گروه تخمیر با ماده رطوبت جامد و تخمیر غوطه ور تقسیم می شود.

۳-۱- تخمیر حالت جامد (Solid state fermentation-SSF)

این نوع تخمیر در غیاب و یا عدم حضور آب صورت می گیرد که می تواند به صورت غلات کامل (دانه یا خرده) یا به صورت پودر (غلات، برنج، سبوس برنج و سبوس گندم) به فرمولاسیون خوراک اضافه شود. این روش نیازمند تکنولوژی کم، سرمایه گذاری کمتر و مصرف انرژی کم است و کمتر در معرض خطر آلودگی میکروبی است [۱۱]. در فرآیند تخمیر حالت جامد؛ معمولاً مخمرها عمدتاً ساکارومایسس سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) و باکتری ها، به ویژه گونه های باسیلوس مانند *Lactobacillus spp* و *B. megaterium*، *Bacillus mycoides*، *L. rhamnosus* و *plantarum* استفاده می شوند که منجر به تعداد بیشتر باکتری های اسید لاکتیک و تعداد کمتر انتروباکترها (*Enterobacteria*) در خوراک تخمیری می شود [۱۲]. کیفیت خوراک تخمیری تولید شده از طریق SSF به عوامل مختلفی از جمله رطوبت اولیه و اندازه ذرات ماده خام و همچنین پارامترهای تخمیر مانند pH، دما، تراکم میکروارگانیسم، ترکیب محیط، روش عملیاتی، اختلاط، استریل سازی، هم زدن، استخراج محصول و فرآوری پایین دستی بستگی دارد [۱۳]. بیشتر ترکیبات گیاهی مورد استفاده در جیره آبزیان معمولاً از طریق سیستم SSF پردازش می شوند. برای اطمینان از تولید یک محصول غنی از پروتئین و مناسب، ممکن است قبل از تخمیر اجزای تشکیل دهنده نیاز به پیش تیمار (استخراج روغن و مکمل سازی آنزیمی) داشته باشند.



۲-۳- تخمیر غوطه ور (Submerged fermentation-SF)

در این نوع تخمیر از مواد و بسترهای مایع (مانند ملاس و آب پنیر) به عنوان محیط کشت میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود. این نوع تخمیر بهره وری پایین، هزینه تولید بالا، نیاز به آب قابل توجه و محیط پیچیده دارد [۱۴]. میکروارگانیسم‌های مورد استفاده برای تخمیر غوطه‌ور محیط مرطوب را ترجیح می‌دهند، نمونه‌هایی شامل باکتری‌ها (*Serratia marcescens*، *Aspergillus carbonarius*)، قارچ‌ها (*Rhodotorula glutinis*، *Monascus purpureus*)، مخمر (*Rhodosporidium*، *R. toruloides*، *mucilaginosus*) و میکرو جلبک‌ها [۱۵]. مزایای قابل توجه SSF نسبت به SF شامل استفاده از حداقل رطوبت، آلودگی باکتریایی کمتر، گردش اکسیژن بهتر، محیط تخمیر ساده‌تر، کاهش هزینه، بهره وری بالا، مصرف انرژی کمتر و عدم کنترل دقیق پارامترهای تخمیر است [۱۶].

۳-۳- تخمیر گازی (Gas fermentation-GF)

از این روش برای تولید سوخت زیستی استفاده می‌شود. محصول جانبی این فرآیند تولید پروتئین‌های تک‌سلولی است که می‌تواند به عنوان منبع پروتئین در خوراک آبزیان پرورشی گنجانده شود. تحقیقات نشان داده است که این پروتئین جدید به عنوان یک منبع تغذیه موثر در ماهی کپور است [۱۷]. این روش برای کار کردن به دما و فشار پایین نیاز دارد، اما گرمای قابل توجهی تولید می‌کند و به یک بیوراکتور پیچیده نیاز دارد.

۴- عواملی که در تخمیر باید در نظر گرفته شوند

۴-۱- انتخاب میکروارگانیسم‌ها

انتخاب میکروارگانیسم‌ها در افزایش بازدهی محصولات تخمیری بسیار حیاتی است. میکروارگانیسم‌های مختلفی از جمله باکتری‌ها (*Bacillus* sp، *Lactobacillus* sp، *Enterococcus* sp)، مخمر (*Saccharomyces* sp) و قارچ (*Aspergillus* sp) در طی فرآیند تخمیر استفاده شده‌اند [۱۸]. در بین آنها، باکتری‌های اسید لاکتیک، به طور گسترده در طی تخمیر استفاده و طیف وسیعی از سوبستراها، از جمله منابع گیاهی و حیوانی را تخمیر، محتوای غذایی و طعم را بهبود می‌بخشد. تولید اسید لاکتیک در محصولات تخمیر شده، سطح pH و میزان کربوهیدرات را در محصولات تخمیری کاهش می‌دهد [۱۹]. مخمر در طی تخمیر اتانول و دی‌اکسیدکربن تولید می‌کند که منجر به کاهش سطح pH در خوراک تخمیر شده می‌شود. این شرایط برای رشد لاکتوباسیل‌ها مفید است که قند را تجزیه کرده و انرژی را به شکل ATP تولید می‌کند. مخمر در خوراک تخمیر شده به تنهایی یا با ترکیبی از باکتری‌های دیگر استفاده می‌شود [۲۰].

۴-۲- سوبسترا

سوبسترای منابع مختلف نقش مهمی در تعیین رشد میکروارگانیسم‌ها و افزایش بازدهی محصول نهایی دارند. متداول‌ترین بسترهای جامد شامل دانه غلات (گندم و ذرت) و طیف وسیعی از مواد و محصولات جانبی با منشأ گیاهی (سبوس، دانه حبوبات) و حیوانی (محصولات جانبی طیور و شیلاتی) است. نوع و ماهیت بسترها می‌تواند بر محصولات نهایی تخمیر تأثیر بگذارد [۲۱].

۴-۳- شرایط محیطی

در فرآیند تخمیر یک محیط مناسب برای رشد موثر میکروارگانیسم و تأثیر آنها ضروری است [۶]. تخمیر LAB و مخمر در محیط‌های گرم، مرطوب و غنی از پروتئین که pH خنثی یا کمی اسیدی هستند، در بهترین حالت انجام می‌شوند. میکروارگانیسم‌ها آنزیم‌هایی تولید می‌کنند که مواد پیچیده را به مولکول‌های ساده تجزیه می‌کنند. بسته به میکروارگانیسم‌های تخمیر کننده، بستر مورد استفاده و انتخاب روش تولید، pH اولیه محیط تخمیر باید به دقت تنظیم شود تا محصولات



تخمیری با کیفیت به دست آید [۲۲]. طبق اظهار ژانگ و همکاران، شرایط ایده آل برای تخمیر کنجاله سویا برای تغذیه آبریان از طریق SSF استفاده از *Bacillus subtilis natto* دمای ۴۴ درجه سانتیگراد، به مدت ۶۲ ساعت با نسبت مساوی آب به بستر، pH اولیه محیط تخمیر ۷/۵ و ضخامت لایه کنجاله سویا ۲ سانتی متر است [۲۳].

۵- خصوصیات خوراک تخمیر شده

در خوراک های تخمیر شده LAB فراوان است که می تواند تکثیر شود و مقادیر بالایی اسید لاکتیک و تعدادی اسیدهای چرب فرار مفید مانند اسید استیک، اسید بوتیریک و اسید پروپیونیک تولید کند [۲۴]. بر اساس یک مطالعه بر روی دانه های تخمیر شده ذرت، محتوای اسیدهای آلی (عمدتا اسید لاکتیک) افزایش یافت، همزمان با کاهش pH از ۵/۵ به ۴/۲، تعداد LAB از ۷/۵ به ۸۸،۲/۲ log cfu/g افزایش یافت. پس از تخمیر تعداد باکتری های کلیفرم، مخمرها و کپک ها در مقایسه با مواد خام و تخمیر نشده از ۶ به ۳ log cfu/g کاهش یافت [۲۵]. یکی مزیت مهم تخمیر در صنعت؛ نگهداری خوراک است چون بخش زیادی از مواد تشکیل دهنده خوراک محصولات جانبی هستند که به دلیل عدم تازگی بیشتر در معرض آلودگی هستند. تخمیر به دلیل تولید اسیدهای آلی و باکتریوسین ها (ساخته شده توسط LAB در طی تخمیر) می تواند از تکثیر آلودگی های بیماری زا جلوگیری کند [۲۶].

۶- اثرات تخمیر بر ترکیب مواد مغذی اجزای خوراک

تخمیر؛ پروفایل غذایی و عملکرد مواد خام را در مقایسه با نمونه های تخمیر نشده بهبود می دهد [۶]. این بهبود را می توان به سه روش تحقق بخشید. اولین رویکرد تخمیر شامل تجزیه ترکیبات پیچیده تر به مولکول های زیستی ساده توسط میکروارگانیسم هاست. دوم، آزادسازی مواد مغذی دست نخورده از سلول های گیاهی (به عنوان مثال، دیواره های سلولی) از طریق فعال شدن آنزیم های درونزا است. تخمیر میکروبی پوشش های غیرقابل هضم و دیواره های سلولی را هم از نظر شیمیایی و هم از نظر فیزیکی شکسته و مواد مغذی قابل هضم را آزاد می کند. مکانیسم سومی که تخمیر می تواند ارزش غذایی منابع گیاهی را بهبود بخشد تجزیه آنزیمی سلولز، همی سلولز و پلیمرهای مشابه و تبدیل به قندهای ساده تر است که توسط جانوران هضم نمی شوند [۲۷].

۶-۱- پروتئین و اسید آمینه

گزارش شده SSF کنجاله سویا با استفاده از مخمر *S. cerevisiae* باعث افزایش پروتئین خام [۲۸] و همچنین افزایش سطح اسیدهای آمینه ضروری شامل آرژنین، ترئونین، هیستیدین، لیزین، لوسین، ایزولوسین، ترئونین، متیونین، فنیل آلانین و والین [۲۹] در محصول تخمیر شده گردید. علاوه بر این، گزارش شده تخمیر مقدار باکتری های پروتئولیتیک را افزایش و pH را کاهش می دهد که باعث تسریع پروتئولیز و در نتیجه افزایش سطح پروتئین در گندم [۳۰] و در نتیجه افزایش لیزین، متیونین و تریپتوفان شد، در حالی که کنجاله سویا تخمیر شده میکروبی حاوی سطوح بالایی از متیونین بود. به طور مشابه، گزارش شده که کنجاله سویای تخمیر شده با *Aspergillus oryzae* اسیدهای آمینه ضروری و پپتیدهای زنجیره کوتاه را افزایش و میزان بازدارنده تریپسین را کاهش داد [۳۱]. Lee و Lim (۲۰۱۱) گزارش کردند تخمیر با *A. oryzae* محتوای پروتئین خام در کنجاله پنبه دانه و کنجاله سویا را به ترتیب ۴/۶ و ۴/۲ درصد بهبود بخشید. افزایش پروتئین خام ممکن است به سنتز پروتئین میکروبی یا از بین رفتن ماده خشک در طی تخمیر مربوط باشد [۳۲]. Song و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند تخمیر میکروبی کنجاله سویا باعث کاهش سطح سیستئین و متیونین شد در حالی که بسیاری از اسیدهای آمینه دیگر افزایش یافتند [۳۳]. انتشار مواد مغذی از اجزای غیرقابل هضم که به ساختارها و سلول های گیاهی متصل شده اند، یکی از دلایل احتمالی افزایش پروتئین خام در طی تخمیر است. تخمیر، توسط باکتری ها و مخمرهای خاص، پوشش های غیرقابل هضم و دیواره های سلولی را هم از نظر شیمیایی و هم از نظر فیزیکی می شکند و باعث افزایش میزان پروتئین در مواد غذایی تخمیری



می‌شود. با این حال، Hong و همکاران (۲۰۰۴) با تخمیر میکروبی کنجاله سویای فاقد چربی تأثیری بر غلظت اسیدهای آمینه ضروری نیافتند [۳۱]. بنابراین، اثرات تخمیر بر ترکیب اسید آمینه پروتئین‌های گیاهی توسط میکروارگانیسم‌ها ممکن است بسته به پارامترهای مختلف مرتبط با فرآیند تخمیر نظیر بستر، میکروارگانیسم‌ها، دمای انکوباسیون، pH، میزان رطوبت و مدت تخمیر متفاوت باشد.

۲-۶- چربی و اسیدهای چرب

تخمیر کنجاله سویا با مخمر *Calathea utilis* منجر به بهبود تغذیه و افزایش چربی خام گردید [۳۴]. همچنین مشخص شده با طولانی شدن مدت تخمیر محتوای چربی خام افزایش می‌یابد، بطوریکه Sharawy و همکاران (۲۰۱۶) بیشترین مقدار چربی خام (۴/۸ گرم در ۱۰۰ گرم) را در کنجاله سویای تخمیر شده با *S. cerevisiae* پس از ۴۸ ساعت تخمیر در مقایسه با چربی خام کنجاله سویای تجاری (۴/۳ گرم در ۱۰۰ گرم)، ۱۲ ساعت کنجاله سویا تخمیر شده (۴/۴ گرم در ۱۰۰ گرم) و ۲۴ ساعت کنجاله سویا تخمیر شده (۴/۶ گرم در ۱۰۰ گرم) گزارش کردند که ممکن است بیانگر کاهش محتوای کربوهیدرات در خوراک تخمیر شده باشد. با این حال، تخمیر پنبه دانه و کنجاله سویا با *A. oryzae* تغییر قابل توجهی در مقدار چربی نشان نداد [۳۲]. Refstie و همکاران (۲۰۰۵) روند کاهشی محتوای چربی کنجاله سویای تخمیر شده با استفاده از *L. acidophilus* را مشاهده کردند. در مطالعه‌ای کنجاله کلزای تخمیری با مخمر *Pichia pastoris* در حالت جامد، باعث کاهش اسیدهای چرب اشباع (SFAs) و اسیدهای چرب غیراشباع (UFAs) و افزایش اسیدهای چرب غیراشباع (PUFAs) در مقایسه با کنجاله غیرتخمیری شد [۳۵].

۳-۶- فیبر خام

اظهار شده تخمیر کنجاله سویا توسط *S. cerevisiae* میزان فیبر را در مقایسه با کنجاله سویای معمولی به طور قابل توجهی کاهش داد و تشریح آنزیم‌های مختلف تجزیه کننده فیبر در طول فرآیند تخمیر ممکن است مسئول کاهش محتوای فیبر در کنجاله سویای تخمیر شده باشد [۲۸]. کاهش مشابهی نیز در کنجاله سویای تخمیر شده با *Candida utilis* در کنجاله سویای تخمیر شده با باسیلوس مشاهده شد [۳۴].

۴-۶- مواد معدنی

مواد معدنی مشتق شده از گیاه قابلیت دسترسی زیستی نسبتاً کمی دارند زیرا اغلب با مواد غیرقابل هضم مانند فیتات و پلی ساکاریدهای دیواره سلولی کمپلکس می‌شوند. زیست فراهمی محدود آنها عمدتاً ناشی از ماتریس‌های پیچیده ای است که این مواد معدنی در آنها متصل و به دام افتاده اند. مطالعات گزارش کردند که تخمیر باعث افزایش زیست فراهمی عناصر میکرو از جمله منیزیم، آهن، کلسیم و روی در ترکیبات گیاهی می‌شود که با کاهش فیتات‌ها همراه است [۳۶]. تخمیر زیست فراهمی مواد معدنی را به روش‌های مختلفی افزایش می‌دهد. اول اینکه، تخمیر مقدار اسید فیتیک که مواد معدنی را به هم متصل می‌کند را کاهش می‌دهد و آنها را پس از تخمیر در دسترس و آزادتر می‌کند. دوم، تخمیر ماتریس پیچیده ای را که مواد معدنی در آن جاسازی شده است را از محل خارج می‌کند. تجزیه فیتات توسط فیتاز باعث آزاد شدن ماتریکس می‌شود. سوم، تخمیر منجر به pH پایین می‌شود که جذب آهن را افزایش می‌دهد.

۷- اثرات تخمیر بر عوامل ضد تغذیه‌ای ترکیبات خوراک

گزارش شده است که تخمیر پروتئین گیاهی توسط باکتریهای اسیدلاکتیک باعث کاهش عوامل ضدتغذیه‌ای مانند اسید فیتیک و تانن غلات می‌شود [۳۷]. اثرات احتمالی تخمیر بر روی عناصر ضدتغذیه‌ای مختلف در مواد تشکیل دهنده خوراک در جدول ۱ ارائه شده است. در غلات، اسید فیتیک ترکیباتی را با کاتیون‌های فلزی مانند آهن، روی، کلسیم، منیزیم و پروتئین

ها تشکیل می‌دهد که باعث کاهش زیست فراهمی پروتئین و مواد معدنی می‌شود. تخمیر فعالیت فیتاز و pH ایده‌آل تولید می‌کند که باعث کاهش ترکیبات ضد مغذی، فیتات و افزایش قابلیت هضم اسید آمینه، کلسیم، فسفر و آزادسازی آهن محلول، روی و کلسیم می‌شود. اگر سطح فیتات کاهش یابد، مقدار آهن، روی و کلسیم محلول در مواد خوراک ممکن است چندین برابر افزایش یابد و ارزش غذایی مواد غذایی بهبود یابد. کنجاله سیاه دانه تخمیر شده با *Bacillus sp.* مقدار اسید فیتیک و تانن را به ترتیب ۳۷ و ۹۱ درصد کاهش داد.

گزارش شده است که سمیت تانن منجر به مهار آنزیم های گوارشی و کاهش عملکرد رشد ماهی می‌شود. با طولانی شدن مدت زمان تخمیر، مواد ضد مغذی مانند تانن، پلی فنل، فیتات و فعالیت بازدارنده تریپسین در ذرت تخمیر شده به طور قابل توجهی کاهش یافت [۳۸]. تخمیر کنجاله سویا با *S. cerevisiae* سطح تریپسین و مهارکننده های اسید فیتیک را در مقایسه با کنجاله سویای خام به میزان قابل توجهی کاهش داد [۲۸]. همچنین کاهش ۸۴ درصدی مهارکننده تریپسین در کنجاله سویای تخمیری با استفاده از *A. oryzae* گزارش شده است [۳۱].

جدول ۱: اثر تخمیر بر ترکیب مواد مغذی و عوامل ضد تغذیه ای در اجزای خوراک تخمیری آبزیان

منبع	پاسخ	میکروارگانیزم تخمیر	ماده
[۲۸]	پروتئین خام، چربی خام، اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری افزایش یافت. مقدار بازدارنده تریپسین، اسید فیتیک و فیبر کاهش یافت.	<i>S. cerevisiae</i>	پودر سویا
[۳۹]	کربوهیدرات های غیر قابل هضم مانند استاکیوز، رافینوز و ساکارز؛ و فاکتورهای ضدتغذیه ای مانند بازدارنده های تریپسین و تانن کاهش یافتند	<i>L. plantarum</i>	
[۴۰]	کیفیت تغذیه از نظر پروتئین، سطح اسید آمینه بهبود یافت اما فیبر خام و گلوکوزینولات کل به ترتیب ۱۶٪ و ۳۸٪ کاهش یافت.	<i>L. salivarius</i>	آرد کانولا
[۴۱]	اسید آمینه ضروری، پروتئین خام و محتوای چربی افزایش یافت. ساپونین، اسید فیتیک و محتوای فیبر کاهش یافت.	<i>S. cerevisiae</i> <i>B. subtilis</i>	آرد آفتابگردان

۸- نقش مواد تشکیل دهنده خوراک تخمیر شده در آبزیان

۸-۱- تاثیر بر بهره وری خوراک و عملکرد رشد آبزی

۸-۱-۱- عملکرد رشد

افزایش عملکرد رشد احتمالاً به بهبود ترکیب اسیدهای آمینه و محتوای پروتئین و همچنین کاهش عوامل ضدتغذیه ای، فیبر خام، سلولز و پلی ساکاریدهای غیر نشاسته ای در طی فرآیند تخمیر نسبت داده می شود. انواع مختلفی از میکروارگانیزم ها (باسیلوس، لاکتوباسیلوس، ساکارومایسس) برای تولید طیف وسیعی از متابولیت های میکروبی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. علاوه براین؛ انواع آنزیم ها نظیر پروتئاز، آمیلاز، سلولاز و کاتالاز توسط این میکروب ها تولید می‌شوند که ترکیبات بزرگ را به مولکول های زیستی ساده تجزیه می کنند. خلاصه ای از اثرات منابع پروتئینی گیاهی و حیوانی تخمیر شده بر عملکرد رشد ماهیان پرورشی در جدول ۲ ارائه شده است. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که اجزای گیاهی تخمیر شده را فقط تا مقدار مشخصی می‌توان در جیره گنجاند چون ممکن است باعث کاهش عملکرد شوند. Zhou و همکاران [۳۴] دریافتند در ماهی جوان *Sparus macrocephalus* کنجاله سویای تخمیر شده بدون هیچ تغییر قابل توجهی در عملکرد رشد تا ۲۰٪ می‌تواند جایگزین پروتئین پودر ماهی شود، اما جایگزینی بیش از ۲۰٪ اثرات منفی روی بهره وری خوراک و عملکرد رشد نشان داد.

گزارش شده کنجاله سویای تخمیر شده در صورت مکمل شدن با اسیدی آمینه تائورین، لیزین و متیونین می تواند تا ۴۰ درصد پروتئین جایگزین پودر ماهی در جیره ماهی سیاه جوان *Black seabream* بدون تغییر در عملکرد رشد شود [۴۲].

جدول ۲: تاثیر جیره های تخمیری بر رشد، بهره وری خوراک و قابلیت هضم مواد مغذی در ماهیان

اجزا	میکروارگانيسم تخمير	گونه ماهی	پاسخ	منبع
پودر سویا کنجاله سویا	<i>Bacillus spp.</i>	قزل آلاي رنگين کمان	سویای تخمیری در سطح ۴۷/۶ درصد از نظر رشد، مصرف خوراک و قابلیت هضم مواد مغذی عملکرد مشابهی در مقایسه با شاهد داشت.	[۴۳]
	<i>B. subtilis</i>	قزل آلاي رنگين کمان	جایگزینی سویای تخمیری در سطح ۳۰٪ جیره رشد بیشتری نسبت به ماهی تغذیه شده در سطح ۵۰٪ و شاهد داشت	[۴۴]
	<i>Bacillus subtilis</i> U304	قزل آلاي رنگين کمان	کنسانتره پروتئین تخمیری حالت جامد می تواند تا ۳۰ درصد پروتئین را با پودر ماهی در جیره کمان جایگزین کند بدون اینکه به رشد و وضعیت سلامت ماهی آسیبی وارد شود.	[۴۴]
	<i>Bacillus subtilis</i> E20	میگوی وانامی	حداکثر سطح جایگزینی کنجاله سویا و کنجاله سویای تخمیری به جای آرد ماهی در جیره به ترتیب ۳۷/۴۲ و ۶۱/۶۷ درصد بود.	[۱۳]
	<i>L. plantarum</i> <i>B. subtilis</i>	فیل ماهی	بهترین عملکرد رشد و ایمنی در جایگزینی ۴۰ تا ۶۰٪ پودر ماهی با کنجاله سویای تخمیری + متیونین و لیزین مشاهده شد	[۴۵]
آرد سویا و آرد پنبه دانه	<i>A. oryzae</i>	تیلاپای نیل	عملکرد رشد تحت تأثیر جایگزینی کامل (۱۰۰٪) سویا و کنجاله پنبه دانه تخمیری قرار نگرفت، اما کارایی استفاده از خوراک در مقایسه با شاهد به طور معناداری کمتر بود.	[۳۲]
آرد آفتابگردان	<i>S. cerevisiae</i> <i>B. subtilis</i>	تیلاپای نیل	عدم تفاوت معنی دار در رشد و کارایی تغذیه تا جایگزینی ۲۵٪ جیره با شاهد بود و تا سطح ۵۰٪ جایگزینی نیز تاثیری بر قابلیت هضم پروتئین و چربی نداشت.	[۴۱]
آرد کانولا	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	تیلاپای نیل	کنجاله کانولای تخمیر شده می تواند بدون کاهش رشد، میزان بقا، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جایگزین کنجاله سویا جیره شود.	[۱۳]
	<i>Bacillus spp.</i>	تیلاپای نیل	استفاده از ۵۰ درصد کانولای تخمیر شده به جای کنجاله سویا در خوراک بچه ماهیان انگشت قد بدون اثر منفی بر شاخص های رشد و تغذیه امکان پذیر است.	[۴۶]
سبوس گندم و سبوس برنج	<i>B. coagulants</i> , <i>B. subtilis</i>	کپور معمولی	بهبود عملکرد رشد و سلامت	[۴۷]



کمبود اسیدهای آمینه ضروری در منابع پروتئینی گیاهی، ممکن است عامل مصرف کم غذا در آبزیان باشد. گزارش شده غنی سازی جیره های غذایی حاوی کنجاله سویای تخمیری با مکمل متیونین و تاوورین باعث بهبود بالانس اسیدهای آمینه و افزایش مصرف خوراک می شود. تغذیه ماهی باس راهراه (*Morone saxatilis*) با کنجاله سویای تخمیری در مقایسه با رژیم حاوی ۳۰ درصد پودر ماهی، مصرف خوراک کمتری را نشان داد که احتمالاً به حذف عوامل ضدتغذیه ای کاهش دهنده مصرف، به ویژه الیگوساکاریدها مرتبط است که تقریباً به طور کامل در طی تخمیر حذف می شوند. تخمیر ممکن است حضور اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدهای کوچک را افزایش دهد که به نوبه خود طعم غذا را افزایش و جذب بیولوژیکی مواد مغذی را در ماهی ساده می کند.

۸-۲- اثرات بر پاسخ های بیوشیمیایی ماهی

۸-۲-۱- فعالیت آنتی اکسیدانی

آنزیم های آنتی اکسیدانی به عنوان مکانیزم دفاعی نقش مهمی در برابر محرک های خارجی و آسیب اکسیداتیو برعهده دارند. مشخص شده فرآیند تخمیر، با *A. oryzae* می تواند قابلیت دسترسی زیستی ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در کنجاله سویا خام مانند ایزوفلاون ها و فلاون ها را افزایش و منجر به فعالیت های آنتی اکسیدانی بهتر در ماهی شود. گنجاندن سطوح بالاتر کنجاله سویای تخمیر شده در جیره های ماهی صخره ای هیچ تاثیر جدی بر رفتار تغذیه یا سلامت ماهی نشان نداد که نشان می دهد جایگزینی سطوح بالاتر؛ فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را افزایش و باعث محافظت در برابر استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط برخی ترکیبات ضدتغذیه ای موجود در سطوح بالای پروتئین گیاهی می شود [۴۸].

۸-۲-۲- ایمنی و مقاومت در برابر بیماری

به نظر می رسد ماهی هایی که با مواد غذایی تخمیری تغذیه می شوند حاوی جمعیت بالاتری از باکتریهای اسیدلاکتیک در روده باشند که سلول های ایمنی را برای تحریک سیتوکین ها که در القا و تعدیل پاسخ ایمنی مفید هستند فعال می کنند. خوراک تخمیری نه تنها آنتی بادی ها بلکه ایمنی موکوس ماهی را نیز تقویت می کند [۴۹]. بسیاری از مطالعات تولید پپتیدهای کوچک در طول فرآیند تخمیر را گزارش کرده اند که تصور می شود با سطوح بالاتر ایمنوگلوبولین در ماهی مرتبط است.

۸-۳- تاثیر بر مورفولوژی و فلور میکروبی روده ماهی

عملکرد روده با رشد و سلامت ماهی مرتبط است لذا رشد سالم روده اهمیت زیادی دارد. تغذیه با خوراک تخمیری می تواند بر تکثیر سلول های اپیتلیال روده تاثیر بگذارد، سطح اپیتلیال را برای جذب مواد مغذی افزایش و کارایی استفاده از مواد مغذی را بهبود بخشد. افزایش جمعیت باکتریهای اسیدلاکتیک در مهار تجمع عوامل بیماریزا، تجزیه پلی ساکاریدهای پیچیده و تبدیل آن به پپتیدهای کوتاه و کاهش فاکتورهای ضدتغذیه ای در خوراک تخمیری تأثیر مطلوبی بر مورفولوژی روده ماهی دارد که به هضم و جذب کمک می کند. میکروارگانیسم هایی که برای تخمیر استفاده می شوند می توانند میکروب های روده ماهی را تعدیل کنند و شایع ترین تغییرات در روده پس از تجویز مواد تخمیری، افزایش غلظت باکتریهای اسیدلاکتیک و در عین حال کاهش تکثیر باکتری های بیماریزا است. مطالعه ای توسط وانگ و همکاران نشان داد که تخمیر حالت جامد سبوس برنج و کنجاله سویا توسط *Bacillus subtilis* باعث افزایش فراوانی باکتری های تقویت کننده سلامت روده *Cetobacterium* و *Fusobacteriota* در گورخرماهی (*Danio rerio*) شد [۵۰].

۹- محدودیت های خوراک تخمیری آبزیان



- **انتخاب سویه میکروبی:** انتخاب سویه میکروبی مناسب و غلظت مناسب آن اولین چالش تخمیر میکروبی خوراک است. سویه انتخابی باید بتواند متابولیت های مورد نظر مانند اسیدها، الکل ها، آنزیم ها یا ویتامین ها را از لحاظ کمی و کیفی برای سلامت ماهی تولید کند. همچنین، سویه باید بتواند با عوامل محیطی مختلفی از جمله دما، pH و انواع بستر مورد استفاده در تخمیر سازگار شود. علاوه بر این، سویه نباید هیچ گونه خطر آلودگی داشته باشد و برای سلامت ماهی ایمن باشد. بنابراین، ممکن است یک بررسی و آزمایش کامل برای تعیین دوز ایده آل میکروارگانیسم ها برای تخمیر ضروری باشد.

- **نتایج متناقض و تنوع زیاد در محتویات مواد مغذی:** بسته به عواملی مانند زمان تخمیر، دما و جمعیت میکروبی موجود نتایج ممکن است متفاوت باشد. در نتیجه، محتوای مغذی خوراک تخمیر شده به دلیل تغییرات در تجزیه میکروبی مواد غذایی می تواند نامتعادل و نامناسب باشد و ممکن است منجر به عدم تعادل مواد مغذی شود که بر رشد ماهی و سلامت کلی تأثیر می گذارد.

- **خطر آلودگی:** تخمیر می تواند منجر به رشد میکروارگانیسم های نامطلوب مانند کپک ها، مایکوتوکسین ها و باکتری های بیماریزا شود که ممکن است خوراک را با عوامل بیماریزا یا سموم خطرناک آلوده کنند. اگر اقدامات بهداشتی و کنترل کیفیت مناسب اجرا نشود، این آلاینده ها می توانند بر سلامت و رشد ماهی تأثیر منفی بگذارند.

- **مسائل مربوط به هضم:** در حالی که تخمیر می تواند قابلیت هضم برخی مواد مغذی را بهبود بخشد، ممکن است قابلیت دسترسی زیستی سایر مواد را نیز کاهش دهد. به عنوان مثال، تخمیر بیش از حد می تواند منجر به کاهش کیفیت پروتئین و قابلیت دسترسی اسیدهای آمینه شود و بر کارایی رشد ماهی تأثیر بگذارد.

- **طعم و پذیرش خوراک:** تخمیر می تواند طعم و بوی خوراک را تغییر دهد و باعث شود از جذابیت غذا کاسته و منجر به کاهش مصرف، کاهش نرخ رشد و هدر رفتن خوراک شود.

- **کاهش کیفیت:** تخمیر طولانی مدت یا شرایط نامناسب نگهداری می تواند باعث تخریب مواد مغذی و تشکیل محصولات جانبی نامطلوب شده و ارزش غذایی خوراک را کاهش دهد.

- **اجزای غذایی محدود:** همه اجزای غذایی خوراک ماهی برای تخمیر مناسب نیستند و برخی ممکن است به خوبی به این فرآیند پاسخ ندهند و باعث می شود تعداد اقلام مورد استفاده در فرمولاسیون خوراک ماهی تخمیر شده را محدود کند.

۱۰- پیشنهادات

- **ارزیابی زیستی اجزای خوراک:** مواد تشکیل دهنده خوراک تخمیری باید یکسری از شاخص ها را داشته باشند تا به عنوان یک منبع پروتئین پایدار در تغذیه آبریان مورد استفاده قرار گیرند منجمله (۱) کفایت تغذیه ای (به عنوان مثال، هضم و رشد و سلامت ماهی را به خطر نمی اندازد)، (۲) جاذبیت بالا برای ماهی، (۳) پایداری فیزیکی و مقاومت در برابر شکستگی، (۴) ماندگاری خوب در شرایط ذخیره سازی و (۵) اثرات کمتر بر محیط زیست محیط.

- **مواد اولیه باکیفیت بالا:** الزامات خاص همراه با رعایت استانداردهای تضمین کیفیت برای مواد مدنظر قرار گیرد. اگر برای تخمیر از مواد بی کیفیتی که با تعداد بیشتری باکتری، قارچ یا سم آلوده شده اند استفاده شوند، می تواند باکتریهای اسیدلاکتیک را محدود و منجر به تولید یک محصول تخمیری آلوده و در نهایت مانع رشد ماهی شود. بنابراین، توصیه می شود از مواد تازه در تخمیر استفاده شود.

- **آماده سازی مواد تشکیل دهنده:** اندازه مناسب ذرات در بین انواع سوبسترا و میکروارگانیسم های مورد نظر متفاوت است. به طور کلی، ذرات خوراک باید کوچک و از نظر اندازه یکنواخت باشند. ذرات کوچکتر نسبت سطح به حجم ماده را افزایش می دهند، بنابراین آب و مواد مغذی بیشتری آزاد می کنند، رشد باکتری اسیدلاکتیک را افزایش می دهند و در نتیجه عملکرد رشد ماهی را بهبود می بخشند. مطالعه ای روی ماهی کپور (*Carassius gibelio*) نشان داد که اندازه ایده آل ذرات برای مواد تشکیل دهنده ۱۶۳ میکرون است و اندازه ذرات بزرگتر از ۱۹۹ میکرون تأثیر نامطلوبی بر سلامت روده ماهی دارد.



- **بهداشت مناسب:** تمیز کردن کامل تمام تجهیزات مربوط به تخمیر تضمین می کند که هیچ عامل بیماری زایی خوراک را آلوده نمی کند و همچنین احتمال آلودگی ثانویه را کاهش می دهد. علاوه بر این، آب مورد استفاده برای تخمیر باید عاری از آلودگی میکروارگانیسم باشد.

- **بهینه سازی شرایط تخمیر:** تخمیر تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله pH، دما، سویه های میکروبی و شرایط محیطی می باشد. سطح pH در فرآیند تخمیر بر فعالیت میکروارگانیسم ها و نتیجه کلی تخمیر تأثیر می گذارد. میکروارگانیسم های مختلف در pH مختلفی رشد می کنند. به عنوان مثال، باکتری های اسید لاکتیک اغلب محیط کمی اسیدی را ترجیح می دهند، در حالی که مخمر ممکن است بسته به دما، وجود اکسیژن و سویه باکتری های اسید لاکتیک و مخمر، pH خنثی تری را ترجیح دهد. برای تخمیر بیشتر مواد گیاهی دمای بین ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتیگراد و زمان ۳ تا ۴ روز استفاده می شود. بنابراین به دلیل تفاوت در مواد تشکیل دهنده، نوع و ماهیت میکروارگانیسم های مورد استفاده در فرآیند تخمیر و تنظیم شرایط تخمیر، چالش هایی در تضمین ارزش غذایی مواد غذایی تخمیری وجود دارد. اگر بتوان این محدودیت ها را به طور موفقیت آمیزی برطرف کرد، تخمیر می تواند راه حل مناسبی برای غنی سازی مواد مغذی آبریان برای تولید ایمن و پایدار آبریان باشد.

مراجع

- [1] Rocker MM, Mock TS, Turchini GM, Francis DS. (2022). The judicious use of finite marine resources can sustain Atlantic salmon (*salmo salar*) aquaculture to 2100 and beyond. *Nature Food*. 3(8):644-649.
- [2] Hardy RW. (2010). Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquacult Res*. 41:770-776.
- [3] Francis G, Makkar HP, Becker K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*. 199(3-4):197-227.
- [4] Pham HD, Siddik MA, Fotadar R, et al. (2020). Substituting fishmeal with lupin *Lupinus angustifolius* kernel meal in the diets of cobia *Rachycentron canadum*: effects on growth performance, nutrient utilization, haemato-physiological response, and intestinal health. *Anim Feed Sci Technol*. 267:114556.
- [5] Burr G, Barrows F, Gaylord G, Wolters W. (2011). Apparent digestibility of macro-nutrients and phosphorus in plant-derived ingredients for Atlantic salmon, *Salmo salar* and Arctic charr, *Salvelinus Alpinus*. *Aquacult Nutr*. 17(5):570-577.
- [6] Dawood MA, Koshio S. (2020). Application of fermentation strategy in aquafeed for sustainable aquaculture. *Rev Aquacult*. 12(2):987-1002.
- [7] Nkhata SG, Ayua E, Kamau EH, Shingiro JB. (2018). Fermentation and germination improve nutritional value of cereals and legumes through activation of endogenous enzymes. *Food Sci Nutr*. 6(8):2446- 2458.
- [8] Stanbury PF, Whitaker A, Hall SJ. *Principles of Fermentation Technology*. Elsevier; 2013.
- [9] Mozzi F, Raya R, Vignolo G. (2010). New approaches for the study of lactic acid bacteria biodiversity: a focus on meat ecosystem. In: Mozzi F, Raya RR, Vignolo GM, eds. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*. Blackwell Publishing; 251-272.
- [10] Zhisheng, W. (2013). Optimization of Process Parameters of Probiotics-Fermented Soybean Meal and Effects of Coordination Action between Compound Probiotics and Enzyme on Fermentation Quality. *Agricultural and Food Sciences*. Corpus ID: 203867474.
- [11] Wang R, Ji Y, Melikoglu M, Koutinas A, Webb C. (2007). Optimization of innovative ethanol production from wheat by response surface methodology. *Process Saf Environ Prot*. 85(5):404-412.
- [12] Hu J, Lu W, Wang C, Zhu R, Qiao J. (2008). Characteristics of solid-state fermented feed and its effects on performance and nutrient digestibility in growing-finishing pigs. *Asian Australas J Anim Sci*. 21(11):1635-1641.



- [13] Shi C, Zhang Y, Lu Z, Wang Y. (2017). Solid-state fermentation of corn soybean meal mixed feed with *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* for degrading antinutritional factors and enhancing nutritional value. *J Animal Sci Biotechnol*. 8(1):1-9.
- [14] Babbar N, Oberoi HS. (2014). Enzymes in value-addition of agricultural and agro-industrial residues. In: *Enzym. Value-Addition of Wastes*. Nova Science Publishers; 29-50.
- [15] Subramaniam R, Vimala R. (2012). Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study. *Int J Sci Nat*. 3(3):480-486.
- [16] Marcellin E, Angenent LT, Nielsen LK, Molitor B. (2022). Recycling carbon for sustainable protein production using gas fermentation. *Curr Opin Biotechnol*. 76:102723.
- [17] Li M, Liang H, Xie J, et al. 2021. Diet supplemented with a novel *Clostridium autoethanogenum* protein have a positive effect on the growth performance, antioxidant status and immunity in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio*). *Aquacult Rep*. 19:100572.
- [18] Mukherjee R, Chakraborty R, Dutta A. (2016). Role of fermentation in improving nutritional quality of soybean meal-a review. *Asian Australas J Anim Sci*. 29(11):1523-1529
- [19] Yeh RH, Hsieh CW, Chen KL. (2018). Screening lactic acid bacteria to manufacture two-stage fermented feed and pelleting to investigate the feeding effect on broilers. *Poult Sci*. 97(1):236-246.
- [20] Edeghor U, Lennox J, Agbo B, Aminadokiari D. (2016). Bread fermentation using synergistic activity between lactic acid bacteria (*Lactobacillus bulgaricus*) and baker's yeast (*Sacchromyces cerevisiae*). *Pak J Food Sci*. 26:46-53.
- [21] Ebrahimi, A., Akrami, R., Najdegerami, E.H., Ghiasvand, Z., Koohsari, H. (2019). Effects of different protein levels and carbon sources on water quality, antioxidant status and performance of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles raised in biofloc based system. *Aquaculture*, 734639.
- [22] Sugiharto S, Ranjitkar S. (2019). Recent advances in fermented feeds towards improved broiler chicken performance, gastrointestinal tract microecology and immune responses: a review. *Animal Nutr*. 5(1):1-10.
- [23] Zhang X, Sun Z, Cai J, et al. (2020). Effects of dietary fish meal replacement by fermented moringa (*Moringa oleifera*) leaves on growth performance, nonspecific immunity and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Fish Shellfish Immunol*. 02: 430-439.
- [24] Niba A, Beal J, Kudi A, Brooks P. (2009). Bacterial fermentation in the gastrointestinal tract of non-ruminants: influence of fermented feeds and fermentable carbohydrates. *Tropl Anim Health Prod*. 41: 1393-1407.
- [25] Ranjitkar S, Lawley B, Tannock G, Engberg RM. (2016). Bacterial succession in the broiler gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol*. 82(8): 2399-2410.
- [26] Chatragadda R, Dufossé L. (2021). Ecological and biotechnological aspects of pigmented microbes: a way forward in development of food and pharmaceutical grade pigments. *Microorganisms*. 9(3): 637.
- [27] Sharma R, Garg P, Kumar P, Bhatia SK, Kulshrestha S. (2020). Microbial fermentation and its role in quality improvement of fermented foods. *Fermentation*. 6(4): 106 .
- [28] Sharawy Z, Goda AM-S, Hassaan MS. (2016). Partial or total replacement of fish meal by solid state fermented soybean meal with *Saccharomyces cerevisiae* in diets for Indian prawn shrimp, *Fenneropenaeus indicus*. *Postlarvae Anim Feed Sci Technol*. 212: 90-99.
- [29] Van Vo B, Siddik MA, Fotedar R, et al. (2020). Progressive replacement of fishmeal by raw and enzyme-treated alga, *Spirulina platensis* influences growth, intestinal micromorphology and stress response in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*. 529:735741.
- [30] Brooks PH. (2008). Fermented liquid feed for pigs, CAB reviews: perspectives in agriculture, veterinary science. *Nutr Nat Resour*. 3:18.
- [31] Hong K-J, Lee C-H, Kim SW. (2004). *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. *J Med Food*. 7(4): 430-435.
- [32] Lim SJ, Lee KJ. (2011). A microbial fermentation of soybean and cottonseed meal increases antioxidant activity and gossypol detoxification in diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *J World Aquacult Soc*. 42(4): 494-503.

- [33] Song Y-S, Frías J, Martinez-Villaluenga C, Vidal-Valdeverde C, de Mejia EG. (2008). Immunoreactivity reduction of soybean meal by fermentation, effect on amino acid composition and antigenicity of commercial soy products. Food Chem. 108(2): 571-581.
- [34] Zhou F, Song W, Shao Q, et al. (2011). Partial replacement of fish meal by fermented soybean meal in diets for black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, juveniles. J World Aquacult Soc. 42(2):184-197.
- [35] Refstie S, Sahlström S, Bråthen E, Baeverfjord G, Krogedal P. (2005). Lactic acid fermentation eliminates indigestible carbohydrates and antinutritional factors in soybean meal for Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture. 246(1-4):331-345.
- [36] Torre M, Rodriguez A, Saura-Calixto F. (1991). Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. Crit Rev Food Sci Nutr. 30(1):1-22.
- [37] Samtiya M, Aluko RE, Dhewa T. (2020). Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview. Food Prod Process Nutr. 2:1-14.
- [38] Ogodo AC, Ugbogu OC, Onyeagba RA, Okereke HC. (2019). Microbiological quality, proximate composition and in vitro starch/protein digestibility of Sorghum bicolor flour fermented with lactic acid bacteria consortia. Chem Biol Technol Agric. 6:1-9.
- [39] Wang Y, Deng Q, Song D, et al. (2017). Effects of fermented cottonseed meal on growth performance, serum biochemical parameters, immune functions, antioxidative abilities, and cecal microflora in broilers. Food and Agricult Immunol. 28(4):725- 738.
- [40] Ahmed A, Zulkifli I, Farjam AS, Abdullah N, Liang JB, Awad EA. (2014). Effect of solid state fermentation on nutrient content and ileal amino acids digestibility of canola meal in broiler chickens. Ital J Anim Sci. 13(2):3293.
- [41] Hassaan MN, Soltan MZ, Abdel-Moez AM. (2015). Nutritive value of soybean meal after solid state fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Anim Feed Sci Technol. 201:89-98.
- [42] Azarm HM, Lee SM. (2014). Effects of partial substitution of dietary fish meal by fermented soybean meal on growth performance, amino acid and biochemical parameters of juvenile black sea bream *Acanthopagrus schlegeli*. Aquacult Res. 45(6):994-1003.
- [43] Yamamoto T, Iwashita Y, Matsunari H, et al. (2010). Influence of fermentation conditions for soybean meal in a non-fish meal diet on the growth performance and physiological condition of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. 309(1):173-180.
- [44] Moniruzzaman M, Bae J, Won S, Cho S, Chang K, Bai S. (2018). Evaluation of solid-state fermented protein concentrates as a fish meal replacer in the diets of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquacult Nutr. 24(4):1198-1212.

[۴۵] خدادوست، ع. خوش خلق، م. علاف نویریان، ح. محسنی، م. خارا، ح. ۱۴۰۱. اثر سطوح مختلف کنجاله سویای تخمیرشده در جیره غذایی بر برخی شاخص های خونی و ایمنی فیلماهی پرورشی. تغذیه آبزیان. سال ۸، شماره ۴، ۱۸-۱.

[۴۶] باقرزاده، ن. ایمانی، ا. سروی مغاللو، ک. محمدی، م. ۱۴۰۲. اثر سطوح مختلف کنجاله کانولای تخمیر شده خوراک بر رشد، کارایی خوراک، ترکیب لاشه و فعالیت آنزیم های گوارشی بچه ماهیان انگشت قد تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*). دوره ۳۲، شماره ۲، ۸۲-۶۹.

- [47] Abiri, S.A., Chitsaz, H., Najdegerami, E.H., Akrami, R., & Jalali, A.S. (2022). Influence of wheat and rice bran fermentation on water quality, growth performance, and health status of Common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles in a biofloc-based system. Aquaculture, 738168.
- [48] Zheng L, Li D, Li ZL, et al. (2017). Effects of *Bacillus* fermentation on the protein microstructure and anti-nutritional factors of soybean meal. Lett Appl Microbiol. 65(6):520-526.
- [49] Ajamhasani, E., Akrami, R., Najdegerami, E.H., Chitsaz, H., & Shamloofar, M. (2023). Different carbon sources and probiotics in biofloc based Common carp (*Cyprinus carpio*) culture: effects on water quality, growth performance, fish welfare and liver histopathology. Journal of World Aquaculture Society, 54(6): 1546-1562.
- [50] Wang A, Meng D, Hao Q, et al. (2022). Effect of supplementation of solidstate fermentation product of *Bacillus subtilis* HGcc-1 to high-fat diet on growth, hepatic lipid metabolism, epidermal mucus, gut and liver health and gut microbiota of zebrafish. Aquaculture. 560:738542.